

L'AGGLUTINATION RAPIDE

Méthode
de
diagnostic des brucelloses

THESE

Présentée et publiquement soutenue
devant la Faculté de Médecine de Montpellier

le 28 juin 1943

PAR

GENEVIÈVE GUY

Diplômée d'Hygiène

EX-MONITEUR DE PARASITOLOGIE

PRÉPARATEUR DE MICROBIOLOGIE

née le 27 avril 1919, à Sérignan (Hérault)

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

<i>Examineurs de la Thèse</i>	{	MM. LISBONNE, <i>Prof., président.</i>	{	<i>Assesseurs</i>
		JANBON, <i>Professeur.</i>		
		CARRÈRE, <i>Agrégé.</i>		
		HARANT, <i>Agrégé.</i>		

MONTPELLIER

IMPRIMERIE DE LA PRESSE

3, Rue Jardin-Martel, 3

1943

L'AGGLUTINATION RAPIDE

METHODE DE DIAGNOSTIC DES BRUCELLOSES



Digitized by the Internet Archive
in 2026

UNIVERSITE DE MONTPELLIER

FACULTE DE MEDECINE

N° 117

L'AGGLUTINATION RAPIDE

Méthode
de
diagnostic des brucelloses

THESE

Présentée et publiquement soutenue
devant la Faculté de Médecine de Montpellier

le 28 juin 1943

PAR

GENEVIÈVE GUY

Diplômée d'Hygiène
EX-MONITEUR DE PARASITOLOGIE
PRÉPARATEUR DE MICROBIOLOGIE

née le 27 avril 1919, à Sérignan (Hérault)

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

<i>Examineurs de la Thèse</i>	{	MM. LISBONNE, <i>Prof., président.</i>	}	<i>Assesseurs</i>
		JANBON, <i>Professeur.</i>		
		CARRÈRE, <i>Agrégé.</i>		
		HARANT, <i>Agrégé.</i>		

MONTPELLIER
IMPRIMERIE DE LA PRESSE
3, Rue Jardin-Martel, 3

1943

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

Professeurs

Chaires:

MM.

Anatomie	J. DELMAS.
Histologie	TURCHINI.
Physiologie	HEDON
Chimie biologique médicale et toxicologie	CRISTOL
Physique médicale	PECH
Anatomie pathologique et médecine expérimentale	BAUMEL
Microbiologie	LISBONNE
Pathologie et thérapeutique générales	PAGES.
Thérapeutique et matière médicale	JANBON.
Hydrologie thérapeutique et climatologie	PUECH.
Hygiène	CARRIEU.
Médecine légale et médecine sociale	VIDAL.
Pathologie médicale et clinique propédeutique	BOULET.
Clinique médicale	L. RIMBAUD.
Clinique chirurgicale	GIRAUD, doyen.
Clinique obstétricale	MASSABUAU, ass.
Clinique des maladies mentales et nerveuses ..	LAPEYRE.
Clin. des malad. des enfants et hyg. du 1er âge	P. DELMAS.
Clinique de dermato-syphiligraphie	EUZIERE, doyen. hon.
Clinique chirurgicale infantile et orthopédie	BOUDET.
Clinique des maladies des voies urinaires	MARGAROT.
Clinique gynécologique	ETIENNE.
Clinique ophtalmologique	JEANBRAU.
Clinique d'oto-rhino-lar. et chir. maxillo-faciale	N...
	DEJEAN.
	TERRACOL.

Charges de cours :

Anatomie	LAUX.
Histologie	GRANEL.
Radiologie	LAMARQUE.
Propédeutique chirurgicale	AIMES.

Professeurs honoraires

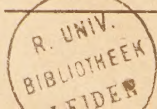
MM. TEDENAT, BERTIN-SANS, CABANNES,
GALAVIEILLE, VIRES, BOSC, VILLARD, GRYNFELT, RICHE.

Chargés d'enseignements complémentaires

MM.	MM.
Chimie MONNIER, agrégé.	Clinique de la
Microbiologie . . . CARRERE, agrégé.	tuberculose . . VIDAL, professeur.
Hist. nat. méd. HARANT, agrégé.	Pathologie chir.. MOURGUE-
Pharmacologie. . HARANT, agrégé.	MOLINES, agr.
Pathologie méd. BOUCOMONT, agr.	— — TRUC, agrégé.
— — BERT, agrégé.	Chir. experim. . GUIBAL, agrégé.
Propédeut. méd. P. RIMBAUD, agr.	Médecine opér... ROUX, agrégé.
Clin. interne . . PUECH, professeur.	Accouchements . CADERAS
Clin. des mal. contagieuses . . JANBON, profes.	DE KERLEAU, agr.
	Stomatologie . .HOUPERT, docteur en
	médecine.

Agrégés en exercice

MM.	MM.
Médecine P. RIMBAUD.	MOURGUE-
— BOUCOMONT.	MOLINES.
— BERT.	Chirurgie GUIBAL.
— LAFON, ch. d'agr.	— ROUX.
Chimie MONNIER.	Urologie TRUC.
Bactériologie . . CARRERE.	Accouchements . CADERAS
Hist. nat. méd. HARANT.	DE KERLEAU.



A LA MEMOIRE
DE MA GRAND'MERE, MADAME BOUFFARD

*Nous n'oublierons pas les sacrifices
qu'elle a fait pour nous et la tendresse
dont elle nous a entourée.*

A MA MERE

*Qui a consacré sa vie à notre bonheur
et à notre avenir, en témoignage de no-
tre profonde affection et de notre im-
mense gratitude.*

A MA SŒUR

A LA MEMOIRE DE JEAN-PIERRE GIRARDET

À MON ONCLÉ

À MA COUSINE

À MES PARENTS

À MES AMIS

A NOTRE PRESIDENT DE THESE:

MONSIEUR LE PROFESSEUR LISBONNE

Professeur de Microbiologie

Chef de service de l'Institut Pasteur

(1932-1935)

A NOTRE JURY

MONSIEUR LE PROFESSEUR JANBON

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGREGE CARRERE

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGREGE HARANT

A TOUS NOS MAITRES

DE LA FACULTE DE MEDECINE

DE MONTPELLIER

AVANT-PROPOS

Nous tenons à exprimer à Monsieur le Professeur Lisbonne l'expression de notre respectueuse gratitude pour l'honneur qu'il nous a fait, en nous permettant de collaborer activement à la vie scientifique quotidienne de son Laboratoire, en qualité de préparateur.

Les heures passées à travailler sous sa bienveillante autorité resteront dans notre souvenir les meilleures de notre vie d'étudiante.

Le sujet de la thèse qu'il nous a suggéré est un modeste chapitre de l'étude de la Fièvre Ondulante, poursuivie depuis longtemps, sous sa direction, à Montpellier. Nous sommes heureuse, en apportant cette contribution, de le remercier de l'intérêt qu'il nous a toujours témoigné et des bons conseils qu'il nous a prodigués.

Nous sommes particulièrement honorée de la présence à notre jury de Monsieur le Professeur Janbon, dont les leçons à la Clinique Pasteur et les cours de Thérapeutique comptent parmi ceux qui nous ont le plus séduit au cours de nos études médicales.

Monsieur le Professeur Carrère a bien voulu faire partie de notre Jury, nous l'en remercions vivement, ainsi que de sa bienveillance à notre égard.

Nous adressons nos remerciements, non moins chaleureux, et disons notre reconnaissance à Monsieur le Profes-

seur Harant qui, s'intéressant paternellement à nous, dès nos études secondaires, a guidé nos pas dans la carrière médicale. Etudiante de première année, il nous a reçue dans son Laboratoire, nous prenant ensuite comme préparateur. Dans les longues conversations qui réunissaient tous ses élèves, il nous a permis d'acquérir des connaissances générales.

Depuis, son amitié ne s'est jamais démentie et nous a été une aide précieuse; nous ne l'oublierons pas.

L'AGGLUTINATION RAPIDE

METHODE DE DIAGNOSTIC DES BRUCELLOSES

INTRODUCTION

Sous le nom d'*hém-diagnostic* rapide, L.-Ch. Brumpt, en 1941, a attiré l'attention des cliniciens sur une méthode d'agglutination extemporanée, permettant le diagnostic sur place de quelques maladies infectieuses.

Rappelons, avec lui, brièvement, que ce sont probablement Bass et et Watkins qui, les premiers, eurent l'idée de réaliser une séro-agglutination rapide de la fièvre typhoïde, puis Lewis, qui appliqua la méthode au diagnostic de la tuléremie, de la fièvre ondulante, du typhus, Dorset à celui de la pullorose. Malgré l'intérêt qu'elle pouvait présenter en médecine humaine et vétérinaire, peu de travaux, surtout en France, sont venus en confirmer la valeur et l'opportunité.

L'article de Brumpt nous a suggéré l'idée de consacrer notre thèse inaugurale au diagnostic des Brucelloses par la méthode rapide. Le Centre de Recherches sur la Fièvre Ondulante de Montpellier, disposait, pour nous aider, des centaines de sérum qu'il reçoit chaque année de tous les points de la France, d'origine humaine et d'origine animale. La séro-agglutination rapide y avait été employée dès 1932, suivant la technique d'Huddleson, puis abandonnée à l'occasion de recherches plus pressantes. C'est sous l'in-

fluence du « renouveau », créée par la communication de Brumpt, que cette étude y a été reprise et que nous avons pu profiter des circonstances favorables qu'il eût été impossible de trouver ailleurs.

Après avoir passé en revue les principaux travaux, publiés surtout en Amérique et en Allemagne, sur la séro-agglutination rapide des Brucelloses, nous indiquerons la technique suivie au Centre de Recherches et les résultats que nous avons pu obtenir sur plus d'un millier de sérums. Nous terminerons ce modeste essai en montrant les avantages que la mise en pratique de cette réaction procurera à la médecine humaine et, mieux encore, à la médecine vétérinaire.

CHAPITRE PREMIER

HISTORIQUE

L'agglutination rapide a été surtout étudiée pour le diagnostic des affections typho-paratyphiques chez l'homme, de la pullorose chez l'animal; nous examinerons uniquement les publications se rapportant à la fièvre ondulante, après avoir indiqué les premiers travaux, point de départ de cette technique.

C'est, comme nous l'avons dit, en 1910, que Bass et Watkins publient, pour la première fois, une technique d'agglutination rapide, permettant de faire le diagnostic des affections typho-paratyphiques au lit du malade. Sur une lame, on met une goutte de sang dans quatre fois son volume d'eau; puis, on ajoute une quantité égale d'émulsion microbienne, très dense en solution salée. On agite et, au bout de deux minutes, on peut lire la réaction sur fond noir.

Déjà, Widal (1896) avait indiqué la possibilité de réaliser l'agglutination avec une goutte de sang, les hématies ne devant apporter aucune gêne à ce phénomène.

Dans une note de 1925, Arlyle Noble, s'inspirant du principe de Kahn, réalise une agglutination rapide, en mélangeant dans de petits tubes des quantités respectives de sérum de 0 cc. 1, 0,05, 0,025, 0,001, avec 0 cc. 1 d'émulsion microbienne. Après agitation, l'agglutination se produit au bout de deux minutes.

En ce qui concerne la Brucellose, ce sont Huddleson et Carlson (1926) qui paraissent les premiers avoir songé à pratiquer l'agglutination rapide pour le diagnostic de cette affection. Dans cinq petits tubes, ils mélangent respectivement: 0 cc. 08, 0,04, 0,02, 0,01, 0,005, de sérum sanguin avec 0 cc. 04 d'un antigène dont ils indiquent la fabrication. Ils agitent, pendant dix secondes, à ce moment-là se produit la floculation. Les auteurs comparent les deux méthodes, séro-diagnostic de Wright et agglutination rapide. Pour les bovins, quelques différences sont notées, dues vraisemblablement au phénomène de zone. Cette cause d'erreur diminue si on augmente la concentration de l'antigène et celle de la concentration salée.

Sur 2.000 échantillons de sang de bovidés, ils arrivent à avoir des résultats analogues pour les deux méthodes dans 100 p. 100 des cas. Quelques essais seulement ont été faits par eux sur les sangs humains. En terminant, les auteurs indiquent que cette agglutination peut se rechercher sur lame et qu'elle se produit immédiatement après le mélange, et toujours en moins de cinq minutes.

Ultérieurement, Huddleson et Abbel (1928) cherchent à perfectionner leur antigène de la façon suivante: ils préparent une émulsion microbienne en eau salée à 12 p. 100, phénolée à 0,5 p. 100, dont la densité est de 4 mm. au néphalomètre de Gates. Après filtration soigneuse, ils ajoutent 0 cc. 01 d'une solution aqueuse saturée de violet de gentiane à 100 cc. d'antigène. Ils portent ensuite à l'ébullition pendant dix minutes, pour provoquer la coagulation de certaines substances organiques qui paraissent diminuer la sensibilité de l'antigène.

Cette nouvelle préparation ne donne pas de satisfaction définitive à Huddleson qui préconise de nouvelles modifications, telles que l'adjonction de violet de gentiane dans

la proportion de 1/50.000°, ou du vert brillant 1/25.000°, et l'addition de gélatine ou de lactate d'ammonium pour stabiliser la suspension.

Pour Donham et Fitch (1933), la sensibilité de l'antigène varie sous l'influence de divers facteurs. Celle-ci diminue quand on augmente la concentration bactérienne ou la concentration en chlorure de sodium. Les auteurs trouvent « difficile » de préparer un bon antigène sans l'addition de substances telles que la gélatine. Cependant, ces corps provoquent des pseudo-agglutinations en présence de sang négatif et leur emploi en trop grande quantité risque de devenir une cause d'erreur. D'ailleurs, si on atteint un taux de gélatine égal à 3 ou 4 p. 100, on obtient un effet contraire à celui désiré: la dose optima paraît être 0,4 p. 100. D'autres substances ont été étudiées: la gomme acacia à 3,5 p. 100 augmente la sensibilité de l'antigène, mais, au taux de 6 p. 100, cette substance rend positifs tous les sérums même normaux. Le lactate de sodium et le sérum de bœuf donneraient des agglutinations plus élevées.

Au cours de leurs essais, les auteurs remarquent la nécessité des électrolytes et insistent sur le chauffage de l'antigène qui n'altère en rien ses qualités et sur le choix des souches de *Brucella*. Pour avoir un bon antigène, à peu près constant, il vaut mieux employer le mélange de plusieurs souches diverses.

Un progrès est réalisé dans la fabrication de l'antigène avec les auteurs allemands. David (1934) fait une suspension en eau salée à 10 p. 100 seulement et ajoute du cristal violet pour rendre l'agglutination plus visible. Son antigène est traité par la chaleur et non par l'alcool, qui donne de mauvais résultats. L'antigène ainsi coloré permet une lecture plus rapide et plus facile.

*
**

Si l'unanimité des auteurs ne s'est pas réalisée pour la fabrication de l'antigène, l'accord n'a pas été plus parfait en ce qui concerne l'appréciation de la rapidité de la réaction.

Dès le début, Huddleson, Carlson et Abbel avaient indiqué que la réaction pouvait se faire en quinze secondes et toujours en moins de deux à cinq minutes.

Contrairement à cette opinion, il résulte des expériences de Donham et Fitch (1932), que l'agglutination ne se produit pas toujours dans un temps aussi réduit, surtout si les sérums examinés ont donné, par la méthode de Wright, un taux de 1/25° à 1/100°. Le résultat n'apparaît souvent qu'au bout de huit à dix minutes. La chaleur augmente la rapidité de l'agglutination, mais d'une façon minime. Son action, d'ailleurs, peut provoquer une évaporation accélérée, avant même que l'agglutination ne se soit produite. La vitesse varie aussi avec les différents antigènes employés; aucun, d'après eux, ne peut donner une agglutination en moins de deux à cinq minutes. Ils citent des cas où le sérum (qui, à la méthode lente, a donné un taux de 1/100°) n'agglutine qu'au bout de dix-huit minutes. Ils conseillent donc de lire les résultats au bout de huit à dix minutes, cet intervalle de temps paraissant le plus satisfaisant pour obtenir des résultats concordants avec ceux de la méthode lente.

Gwatin mélange sur une lame une quantité égale de sérum et d'antigène. L'agitation, l'augmentation de la surface de contact du liquide et la chaleur augmentent la rapidité de la réaction,

L'action de la chaleur a été reconnue par presque tous les auteurs qui se sont ingéniés à joindre à leur appareil un dispositif quelconque de chauffage: lampes électriques d'Huddleson et Abell, boîte chauffée par des thermophores ou des pierres chauffées pour David, flamme de bougie pour Diernhofer.

Le froid même empêcherait la réaction de se produire; dans les champs ou dans les étables, c'est l'abaissement de température qui retarde l'apparition de la réaction (David).

*
**

La méthode rapide a été comparée avec la méthode lente à plusieurs reprises.

La plupart des auteurs notent une identité presque absolue dans les résultats (Lienhardt et Kitselman, Graham et Thorp, Palmer et Baker, Wisnický et Larson, Simpson, Hardenberg, Baker et Klussendorf).

Pour Damon (1929), la méthode rapide serait beaucoup plus sensible. Certains sérums, positifs par cette méthode, seraient simplement douteux au séro-diagnostic de Wright; mais il attire l'attention sur la délicatesse de cette technique qui ne doit être confiée qu'à des mains expertes.

Welch et Mickle (1931) affirment, eux aussi, la supériorité de la méthode sur le séro de Wright et David, quelques années plus tard, arrive aux mêmes conclusions.

L'accord sur ce point n'est cependant pas unanime, et nombre d'auteurs américains n'attribuent pas au diagnostic rapide une certitude absolue (Huddleson, Torrey et Carlson, Gwatkin).

La méthode rapide ne donne pas toujours des résultats identiques (Donham, Fitch, 1932), même quand la réaction est faite avec la plus grande rigueur.

Les divergences sont surtout nettes quand il s'agit de sérum agglutinant au taux de $1/25^{\circ}$ à $1/100^{\circ}$ ou, plus rarement, $1/250^{\circ}$, par la méthode de Wright. Ce sont toujours les mêmes groupes de sérums qui donnent des divergences. La viscosité et la tension superficielle différentes de chaque sérum joueraient un rôle. Mais, le plus souvent, il s'agit d'animaux douteux ou tout récemment infectés (depuis moins de trois ou quatre semaines).

Cependant, la méthode rapide et la méthode lente ne peuvent être comparées: elles ont un but différent; de plus, la méthode rapide se faisant au pré ou à l'étable, il est tout à fait naturel que les erreurs d'expérience soient plus grandes.

Ces auteurs font remarquer que le phénomène de zone ne se rencontre pas dans l'agglutination rapide. Brumpton, plus tard (1941), partagera cette opinion (1).

Gould et Huddleson (1937) font observer qu'un résultat négatif par cette méthode ne doit pas faire éliminer le soupçon de Brucellose. L'agglutination ne serait positive que dans un nombre *relativement faible* de cas cliniques et quand le taux au séro de Wright est supérieur à $1/25^{\circ}$; ils lui préfèrent l'intradermo-réaction.

(1) On sait en quoi consiste le phénomène de zone ou d'agglutination paradoxale: une agglutination qui ne se produit pas à des taux de faible dilution et qui se produit à des taux élevés. Par exemple, agglutination nulle à $1/10^{\circ}$, $1/20^{\circ}$, $1/80^{\circ}$, $1/160^{\circ}$ et positive à $1/320^{\circ}$ jusqu'à $1/1.250^{\circ}$. Il s'ensuit que si on ne fait qu'une ou deux dilutions, on risque de rencontrer une agglutination négative qui eut été positive à d'autres dilutions plus élevées.

On pourrait craindre qu'avec la seule dilution de la réaction sur lame, on tombât précisément dans la zone où le séro serait négatif. Ce phénomène, néanmoins, nous a paru très rare, lorsqu'on utilise cette technique. (Il est à remarquer que ce sont les sangs d'homme, de brebis et de chèvre qui présentent le plus souvent cette anomalie d'agglutination). Notons que ce phénomène s'estompe si l'on utilise un antigène hypersalé à 5 p. 100.

Thiessen recommande le séro-diagnostic de Wright; la méthode rapide étant laborieuse et peu satisfaisante, surtout pour le sang et pour le lait frais.

Seeleman et Wolf (1938) donnent leur préférence à la méthode de floculation. L'agglutination rapide est cependant très sensible. Dans les cas où elle est négative, elle a une valeur d'épreuve absolue; mais elle ne peut fournir une grande sécurité que si elle est pratiquée dans un laboratoire. Dans l'étable, elle ne révèle pas tous les animaux atteints: elle donne seulement un aperçu du degré d'infection de l'étable.

*
**

La majorité des expériences rapportées ci-dessus a porté sur le sérum sanguin; nous allons examiner maintenant les résultats obtenus avec *le sang frais*..

Huddleson (1932) indique, pour la première fois, que l'épreuve peut se faire avec le *sang total*. Il mélange 0 cc. 01 de sang à une goutte d'antigène; après agitation, si la réaction est positive, on voit apparaître, en moins d'une minute, des petits flocons rouge cramoisi. Cette réaction aurait été employée dans les hôpitaux de Malte. Sans donner les raisons qui motivent cette opinion, Huddleson pense que l'agglutination avec le sang total ne peut donner qu'un résultat de probabilité.

Cervinka et Jilek (1935), sur des cobayes, ont des résultats positifs en trois secondes avec des dilutions de 1/100° et 1/300°, qu'il s'agisse de sang total ou de sérum.

C'est à Diernhofer (1936) que revient le mérite d'avoir perfectionné la technique avec le sang frais, qu'il emploie au lieu du sérum, dont la préparation demande toujours un certain temps d'attente.

Pour éviter la coagulation de la goutte de sang utilisée, il préconise l'adjonction de citrate de soude ou d'oxalate de potassium à l'antigène; pour en assurer la conservation, il ajoute, soit du phénol, du tricrésol ou du formol; enfin, pour rendre l'agglutination plus visible, il introduit des substances colorantes, telles que le violet de gentiane ou le bleu victoria.

C'est à peu près la formule de l'antigène que proposera ultérieurement Brumpt pour l'hémo-diagnostic clinique.

Diernhofer réalise deux sortes d'épreuves: l'épreuve de base et l'épreuve de sûreté.

Dans la première, il met une goutte d'antigène et une goutte d'oxalate à un demi-centimètre l'une de l'autre, sur une lame de verre. Il prend avec la cuiller d'un vaccinostyle une goutte de sang qu'il mélange avec l'oxalate, d'abord, puis avec l'antigène. Il remue en étalant. Si le résultat est positif, des flocons bleus apparaissent.

L'épreuve de sécurité I consiste à prendre une goutte d'un mélange à parties égales d'oxalate et d'antigène, que l'on ajoute à une goutte de sang. Le reste de la manipulation se fait comme dans l'épreuve de base. Pour l'épreuve de sécurité II, on met deux gouttes du mélange oxalate-antigène. Une réaction positive avec cette dernière épreuve correspond environ à un taux de 1/150^e dans la méthode lente.

La méthode de Diernhofer, étudiée par Ravaglia (1926), lui donne des résultats très satisfaisants avec le sang total comme avec le sérum.

*
**

D'autres auteurs ont essayé de pratiquer cette méthode en employant du sérum ou du sang desséché.

Donham et Fitch laissent sécher le sérum sur la lame et dissolvent la tache ainsi obtenue dans la goutte d'antigène. L'agglutination se produit normalement.

Les réactions faites sur le sang desséché donnent des résultats concordants dans les cas très positifs (Sirk, 1937). Dans les cas douteux ou lents, l'auteur note quelques divergences. Si le sang desséché est préalablement défibriné, les résultats sont absolument semblables: les images obtenues sont même plus claires. Avec le sang desséché, préalablement oxalaté, résultats analogues à ceux obtenus avec le sang défibriné. Les préparations desséchées conservent leur agglutinabilité après huit, quinze et vingt-deux jours.

*
**

Les recherches relatives à la méthode rapide n'ont pas porté uniquement sur le sang. Torrey (1929), le premier, eut l'idée d'employer le petit lait; après lui, Norton et Pless eurent d'excellents résultats.

Berge et Ekrem (1932) étudient sur 45 vaches les données fournies par la méthode rapide et la méthode lente. La première donne 25 réactions positives, la seconde en donne 28. Inaugurant une nouvelle technique, les auteurs emploient non du petit lait, mais du *lait frais total*.

Cervinka et Jilek (1935) utilisent cette réaction avec succès, mais il faut une dilution inférieure à celle du sang.

Diernhofer, lui aussi, emploie une quantité supérieure de lait: il met quatre cuillers de vaccinostyle pour une goutte d'antigène. Si un seul quartier de pis est atteint, le lait total peut donner un résultat négatif; aussi vaut-il mieux analyser séparément le lait de chaque quartier de pis. Pour avoir de bons résultats, il faut toujours chauffer légèrement.

David met deux à trois gouttes de lait en présence de la même quantité d'antigène. Il mélange, la réaction se produit en deux à trois minutes. Le lait peut donner lieu à des peuso-agglutinations. La réaction est plus précise avec le lait frais qu'avec le petit lait.

Les agglutinations avec le lait seraient souvent négatives, même chez les animaux infectés (Weenbaas, 1935). Dans le sang, par contre, elles sont toujours positives.

Tous les auteurs sont d'accord pour employer pour le lait une dose plus élevée de sérum ou un antigène plus concentré. Schönberg et Imig proposent donc une pâte contenant une émulsion microbienne dense. A partir de vingt tubes de gélose, ils préparent 3 à 4 cc. de suspension épaisse qu'ils colorent avec de la fuchine ou, mieux, une solution alcoolique de dahlia. Quelques gouttes de formol sont ajoutées. Ils lavent, ils centrifugent et ils remplacent l'eau par la glycérine à 50 p. 100.

A une goutte de lait, ils incorporent de la pâte jusqu'à obtention d'une coloration uniforme bleu violacé: dans les cas positifs, il se forme des amas de différentes dimensions.

Le lait desséché peut aussi être employé et il a donné à Sirk des résultats aussi bons que ceux obtenus avec le lait entier.

Résumant toutes ces données, Brumpt (1940) indique une technique nouvelle pour la pratique de l'hémo-diagnostic.

A la suite de Diernhofer, il emploie du sang total; sur une lame de verre ou sur une carte de visite en bristol, il met une grosse goutte d'antigène et une petite goutte de sang. L'agglutination se produit au bout de une à quatre minutes.

L'antigène qu'il emploie est un antigène coloré, dont la fabrication se rapproche de celle de Diernhofer. C'est une suspension microbienne épaisse en eau citratée à 10 p. 100, à laquelle il ajoute du bleu de Sabrazès et du formol à 0,2 p. 100.

Les résultats coïncident dans 100 p. 100 des cas avec ceux du séro de Wright.

Dernièrement, avec Mlle G. Cordier (1943), ils ont étudié aussi l'agglutination avec le lait frais. Les résultats qu'ils ont obtenus sont concordants avec ceux de la méthode lente. Pour le diagnostic de la brucellose bovine, ils emploient le galacto-diagnostic de préférence à l'hémo-diagnostic.

A la suite de ces publications, L. Ch. Brumpt a vulgarisé la pratique de l'hémo-diagnostic rapide dans les milieux hospitaliers. Il a, d'autre part, répandu cette technique comme un moyen efficace à utiliser dans la prophylaxie de la brucellose animale.

Nota. — Dans notre bibliographie, nous avons omis tout ce qui a trait à une méthode rapide de diagnostic par floculation établie d'après le principe de Meinicke. Les résultats obtenus seraient excellents.



CHAPITRE II

TECHNIQUE

Nous allons décrire la technique que nous utilisons, qui est celle du Centre de Recherches sur la Fièvre ondulante de Montpellier.

1. — LE MATÉRIEL.

Le matériel que nous employons est des plus simples: une plaque de verre sur laquelle on trace au diamant de vitrier des petits carrés d'environ 2 cm. de côté, pour éviter le mélange des divers échantillons; un flacon compte-gouttes étalonné pour l'antigène; une anse pour déposer les gouttes de sang; une lampe électrique pour éclairer la partie inférieure de la plaque au moment de la lecture; en plein champ, dans une étable, on pourrait fort bien s'en passer, la réaction étant nettement visible sans éclairage particulier. Un petit miroir permettant d'éclairer la préparation par sa face inférieure facilite la lecture et l'appréciation des résultats.

Avant de s'en servir, la plaque de verre doit être soigneusement essuyée pour éviter les causes d'erreur dues aux poussières.

2. — L'ANTIGÈNE.

Nous préparons l'antigène suivant la méthode proposée par Brumpt.

La souche que nous employons S6 est du type Suis; elle a été isolée par Traum, souche rigoureusement S, donc thermostable. Depuis de nombreuses années, elle a été utilisée avec succès et correction par le Centre de Recherches sur la Fièvre ondulante de Montpellier et les laboratoires auxquels elle est distribuée, pour des milliers de séro-diagnostic. La valeur de l'antigène dépend surtout de la souche employée.

Après culture de 48 heures à trois jours sur gélose-foie (Stafseth), à $\text{pH} = 7,2$, on prépare une suspension en eau distillée citratée (10 p. 100). L'émulsion est opaque et contient environ 200 milliards de germes au centimètre cube. Elle est dix fois supérieure à l'émulsion standard employée pour le séro-diagnostic de Wright (20 milliards).

Comment avons-nous déterminé la quantité optima de germes par centimètre cube?

Dans six tubes, on place une suspension microbienne en eau citratée, dont la concentration est égale à 5-7-9-10-15 et 20 fois la concentration de celle qui est utilisée pour la réaction lente au C.R.F.O.

On prend un sérum qui donne une agglutination intense à un taux élevé et on le met en présence du contenu de chacun des six tubes.

L'agglutination la plus rapide et la plus nette a été fournie par le tube dont la concentration est dix fois plus forte que celle de la suspension standard. Nous faisons donc un antigène contenant 200 milliards de germes au centimètre cube.

On filtre sur coton de verre pour débarrasser l'émulsion des particules de gélose qui auraient pu être entraînées. La coloration est obtenue en ajoutant deux à trois gouttes de bleu de Sabrazès par centimètre cube. Du formol (1 p. 100) assure la conservation et la stérilité. On laisse quelques jours à la température ordinaire avant de s'en servir.

Cet antigène ainsi préparé peut se conserver *pendant des mois* sans que ses propriétés s'altèrent: l'agglutination est toujours aussi rapide et aussi correcte.

3. — LA RÉACTION.

1°) *Sang total.*

Sur trois petits carrés de la plaque de verre, on dépose respectivement 1, 2 et 3 gouttelettes de sang, à l'aide d'une anse de 2 à 4 mm. de diamètre. On laisse tomber librement, à l'aide d'un compte-goutte, toujours le même, une grosse goutte d'antigène au milieu du sang, puis on mélange intimement les deux liquides en les étalant, de façon à former une grosse pastille; on fait ensuite subir à la plaque, un mouvement de va et vient en tournant. L'agglutination se produit dans certains cas presque instantanément, on n'a souvent même pas besoin d'agiter la plaque, le simple mélange provoquant l'apparition de petits flocons bleus très nettement distincts les uns des autres sur un fond rougeâtre transparent.

Au bout de quelques instants, la préparation prend l'aspect d'une cocarde, comme l'ont indiqué Diernhofer et Brumpt: les hématies sont rassemblées au centre, à la périphérie, colerette de grains bleus; entre les deux, zone intermédiaire plus claire.

Si l'agglutination met plus de temps à se produire (1 à 2 minutes), les flocons apparaissent d'abord à la périphérie de la pastille. A partir de ce moment-là, l'agglutination se poursuit très rapidement. Nous avons toujours eu un résultat avant deux minutes, même lorsque l'agglutination lente indiquait un taux de $1/40^\circ$.

Deux fois seulement le résultat était lu après trois minutes: il s'agissait du sang de deux hommes, l'un agglutinant au $1/160^\circ$, l'autre au $1/640^\circ$. Autre cas: le sang d'une chèvre agglutinant au $1/40^\circ$ nous a donné un résultat positif après sept minutes. Mais, généralement, la lecture doit se faire deux à trois minutes au plus tard après le mélange, sinon la dessiccation commence à se produire et devient une source d'erreur.

Le temps dans l'appréciation des résultats. — Huddleson et Carlson considéraient comme positives les agglutinations se produisant après quinze minutes. Donham et Fitch réclament avant la lecture un intervalle d'au moins huit à dix minutes. Une attente aussi longue nous paraît être une cause d'erreur importante dans l'appréciation du résultat. Ces auteurs prétendent qu'aucun antigène n'est capable de produire l'agglutination avant deux à trois minutes: nous le répétons, avec notre antigène, elle se produit parfois presque instantanément et presque toujours en moins d'une minute.

Une agglutination se produisant avec une grande rapidité correspond à un taux élevé. Quand le résultat est positif avant quinze secondes, on peut s'attendre à ce que le taux de l'agglutination par la méthode lente soit environ $1/640^\circ$. On ne peut établir une relation plus précise entre le taux et le temps; certains sangs ayant un taux de $1/2.560^\circ$ agglutinent plus tardivement que ceux ayant seulement un taux de $1/1.280^\circ$.

Taux de l'agglutination. — C'est le plus grand reproche adressé à l'hémo-agglutination que de ne pas donner des notions quantitatives. Nous pensons qu'avec l'habitude, un expérimentateur peut très bien, suivant la vitesse et l'intensité de l'agglutination, se rendre compte du taux approximatif obtenu avec le séro-diagnostic de Wright.

C'est ainsi que Huddleson et Abell emploient les proportions suivantes: 0 cc. 08 0,04 0,02 0,01 0,004 de sérum et 0 cc. 03 d'antigène, ce qui donne approximativement un taux de $1/25^\circ$, $1/50^\circ$, $1/100^\circ$, $1/200^\circ$, $1/500^\circ$.

Nous avons fait de notre côté des expériences pour évaluer le taux de la réaction. D'aussi petits volumes étant très difficiles à préciser, nous avons pesé les éléments entrant dans la réaction, et avons pu ainsi établir le rapport d'un réactif à l'autre.

La goutte d'antigène pèse 0 gr. 06; une anse de sang pèse 0 gr. 0002.

En mélangeant une goutte d'antigène à 1, 2 et 3 anses de sang, nous obtenons des taux respectifs de l'ordre de $1/300^\circ$, $1/150^\circ$, $1/100^\circ$.

L'hémo-agglutination a été réalisée au laboratoire avec des échantillons arrivés en mauvais état: sang prélevé depuis longtemps, sans précaution d'aseptie, laqué, putréfié même: les résultats ont été positifs, mais avec un léger retard; les grains d'agglutination étaient généralement plus fins.

Les résultats sont aussi satisfaisants si on manipule sur le sang desséché. Le sang peut être desséché sur lame: il suffit alors de le redissoudre dans la goutte d'antigène. Ou bien le sang desséché sur papier filtre est à nouveau dilué dans deux gouttes d'eau salée; la manipulation se poursuit ensuite normalement. Quel que soit le mode employé, la réaction est toujours positive.

Action de la chaleur. — Un moyen permet d'accélérer la réaction. Il suffit de chauffer légèrement la plaque de verre. Si la réaction ne se produit pas après trente à quarante secondes, on passe rapidement, à deux ou trois reprises, la plaque au-dessus de la veilleuse d'un bec Bunsen. La plaque ne doit pas provoquer une sensation de chaleur quand on l'applique sur le dos de la main. L'agglutination se produit quelques secondes après.

Donham et Fitch, utilisant la chaleur, prétendent que l'accélération est minime et que ce procédé présente le grave inconvénient de provoquer l'évaporation avant même le début de l'agglutination. Il ne nous apparaît pas utile de chauffer à ce point pour avoir un résultat satisfaisant.

Causes d'erreur. — Des pseudo-agglutinations peuvent parfois se produire et induire en erreur l'observateur inaverti ou le débutant.

C'est ainsi que les globules sanguins, dans les sangs un peu vieux, peuvent donner des granulations blanches: les granulations non bleutées ne doivent pas être considérées comme positives. D'autres agglutinats légèrement bleutés peuvent prêter à confusion: ce sont ceux produits par les graisses, les poussières; si l'antigène est trop vieux, il peut aussi donner lieu à des pseudo-agglutinations.

L'apparition de filaments visqueux est considérée comme une réaction positive par Brumpt et Mlle Cordier.

De même un mélange mal fait peut prêter à confusion. Diernhofer a déjà insisté sur ce point; certaines réactions sont considérées comme négatives, alors qu'en fait elles sont positives: une quantité insuffisante de sang, un examen superficiel, quand il s'agit de flocons très fins, une chaleur insuffisante sont les causes de cette erreur.

Parfois des sangs négatifs à la méthode rapide, ont donné au séro de Wright un taux de $1/10^{\circ}$ à $1/40^{\circ}$. Si au lieu de pratiquer la réaction avec une anse de sang, on met une quantité allant de 0 cc. 001 à 0 cc. 01, l'agglutination devient positive. Le taux atteint est alors de $1/70^{\circ}$, $1/40^{\circ}$, $1/25^{\circ}$, $1/7^{\circ}$.

2°) *Sérum.*

L'agglutination rapide avec le sérum se réalise de la même manière; les résultats obtenus sont identiques, mais leur lecture est plus nette et plus facile. Au laboratoire, on a donc avantage à l'utiliser. Sur place, la réaction se fera avec le sang total.

3°) *Lait.*

Nous pratiquons la réaction avec le lait, le petit lait et le colostrum. Les résultats paraissent meilleurs si l'on emploie le lait entier. Les doses utilisées sont bien supérieures à celles du sang. La réaction n'est que rarement positive si on se sert de l'anse; il faut mettre une grosse goutte de lait égale au moins à celle de l'antigène. L'agglutination se produit en moins d'une minute par l'apparition de grains bleus assez gros. La réaction est positive pour des laits n'agglutinant qu'au $1/20^{\circ}$.

Si on manipule avec du petit lait, il faut employer les mêmes doses; une seule différence à noter: les granulations sont beaucoup plus petites.

Des causes d'erreur peuvent rendre la lecture plus délicate: le contenu gras du lait donne lieu à des pseudo-agglutinations; c'est ainsi que la caséine ou l'albumine du lait provoquent la formation de flocons jaunes ou blancs.

On a souvent reproché au lait de donner un résultat négatif alors que l'hémo-diagnostic chez le même animal est positif. Le bacille de Bang peut infecter un seul quartier de pis et y être en quantité relativement faible. Une fois le lait de ce quartier mélange avec le lait des trois autres, il est possible que la concentration en anticorps soit alors insuffisante pour provoquer l'agglutination. Il est donc prudent, pour être bien sûr de la négativité d'un lait, d'opérer non sur la traite totale, mais sur le produit de chaque quartier de pis. D'autre part, il est fréquent que les agglutinines ne se trouvent pas dans la sécrétion lactée.

4°) *Liquide céphalo-rachidien.*

Nous avons pu essayer la méthode rapide sur cinq liquides céphalo-rachidiens. Trois ont été négatifs par les deux méthodes (lente et rapide). Un autre positif au 1/40° par la méthode de Wright, a donné une légère agglutination avec la méthode rapide. Le dernier enfin, a été franchement positif (Wright = 1/640°).

Les doses employées ont été: 0 cc. 07 d'antigène avec 1, 2 et 3 anses de liquide céphalo-rachidien.

CHAPITRE III

RESULTATS

Nos recherches ont porté sur 1.255 prélèvements se répartissant comme suit:

Sangs humains	762
» bovins	227
» caprins	149
» ovins	42
» de cobayes	35
» équins	5
Laits divers	30
L. C. R. humains	5

Sur chacun d'eux ont été pratiqués le séro-diagnostic de Wright classique suivant la technique du Centre de Recherches sur la Fièvre ondulante, et l'agglutination rapide, soit avec le sang total, soit avec le sérum seul.

Sur les 762 sangs humains, 427 ont été positifs et 325 négatifs par les deux méthodes.

8 sangs négatifs à l'agglutination rapide donnent au séro-diagnostic classique une agglutination au taux de $1/10^{\circ}$ et de $1/20^{\circ}$. Puisque chez l'homme, on admet que seule une agglutination à $1/80^{\circ}$ a une valeur concluante, le taux de $1/40^{\circ}$ n'indiquant qu'une orientation possible vers une

mélitococcie soit au début, soit à son déclin, on doit admettre en pratique une concordance de 100 p. 100 dans les deux tests. C'est là un point fondamental qui démontre que malgré sa simplicité et son manque de précision numérique, le séro-diagnostic sur lame est une méthode dont la correction ne le cède en rien à l'autre.

Les deux prélèvements restant ont donné lieu à des constatations intéressantes. Dans les deux cas, il s'agit d'endocardite à streptocoque viridens. Pour le premier, il ne saurait être question de mélitococcie surajoutée. L'hémo-diagnostic sur lame étant nettement positif en moins d'une minute, quel ne fut pas l'étonnement de ne constater à la méthode classique qu'une agglutination massive à 1/10° et douteuse à 1/20°.

Le second cas est identique au premier: endocardite à streptocoque viridens chez un homme d'environ 60 ans, présentant quelques symptômes s'apparentant à ceux de la fièvre ondulante. L'hémo-diagnostic, rapidement positif sur lame, fait penser à une mélitococcie certaine, néanmoins l'agglutination classique est inférieure au taux de 1/80° et à 1/40° pour un second prélèvement.

Nous nous contentons de signaler cette agglutination d'apparence paradoxale de *Brucella abortus* par le sérum streptococcique, sans qu'on puisse, sur deux cas, en proposer une interprétation plausible.

Chez les bovins, la concordance est presque aussi complète: 99 p. 100 environ; néanmoins, ce pourcentage favorable à la méthode rapide, ne peut être obtenu qu'en *forçant* sur les quantités de sang mises en jeu. Au cours de sa dernière prospection, le Professeur Lisbonne a étiqueté sur place « négatifs » quelques sangs qui se sont révélés positifs au laboratoire à des taux concluants: 1/80°, 1/160°. Reprenant ces sangs citratés, il a vu qu'en utilisant de

grosses gouttes de sang (d'environ 0 cc. 03) la réaction négative se positivait. Il n'en reste pas moins vrai que la réaction est délicate à apprécier (les flocons d'antigène étant en quelque sorte perdus dans la masse de sang) et qu'il faut une personne rompue à cette technique pour en faire une lecture correcte.

D'autre part, le sang des bovins même citraté a tendance à coaguler quand il est étalé sur une lame de verre (action thromboplastique des surfaces). Il se forme des filaments qui peuvent absorber le colorant de l'antigène et en imposer pour une floculation. Il y a lieu de mettre en garde contre cette cause d'erreur.

Avec les sangs d'ovins, nous n'avons retrouvé que des résultats concordants.

Par contre, les sangs caprins se comportent d'une façon moins correcte. Dans 11 cas sur 149 (soit 7,3 p. 100), la réaction rapide a été négative là où la séro-agglutination lente donnait des taux de $1/80^e$ à $1/160^e$. Il semble évident qu'en dehors des anticorps — facteurs actifs de l'agglutination — des substances du sang jouent, en certaines conditions, un rôle empêchant manifeste.

Les sangs de cobayes présentent, d'après nous, cette particularité que l'agglutination rapide est plus nette avec le sérum qu'avec le sang total.

Rien de particulier avec les juments atteintes de mal de garrot.

Quant aux lacto-agglutinations rapides que nous avons pratiquées au laboratoire et celles que le Professeur Lisbonne a effectuées « sur le terrain », elles nous ont montré une concordance étroite avec l'agglutination lente. La première utilise le petit lait, obtenu par coagulation à la présure et élimination de la matière grasse par le tétrachlorure de carbone; l'autre, le lait entier,

Dans l'étable, la lacto-agglutination rapide est parfois d'une netteté remarquable, plus facile à observer que l'hémo-agglutination, à la condition d'avoir déposé sur la lame une grosse goutte de lait d'un volume environ deux fois supérieur à la goutte d'antigène.

Rappelons que la lacto-agglutination (par les deux méthodes) peut être souvent négative, alors que la séro-agglutination est positive et qu'employée comme unique critérium de l'infection brucellique, elle expose à méconnaître un pourcentage non négligeable de cas positifs.

On peut donc conclure que la méthode rapide peut être employée avec autant de certitude que le séro de Wright dans tous les diagnostics de Brucellose humaine. Quand il s'agit d'animaux, surtout de caprins, il sera prudent de réaliser un séro-diagnostic de Wright en cas de réaction douteuse à l'hémo-diagnostic.

CHAPITRE IV

AVANTAGES DE L'AGGLUTINATION RAPIDE

L'agglutination rapide présente l'inconvénient de ne pas donner un résultat quantitatif; mais nous avons vu qu'on pouvait établir *grosso modo* un certain taux d'agglutination.

D'ailleurs, on ne demande pas à cette réaction de donner les précisions que peut fournir le séro-diagnostic de Wright; on veut simplement savoir si le sang examiné est infecté ou non. Ce procédé nous renseigne *exactement* et *rapidement* sur ce point.

Par contre, cette méthode a, à son actif, des avantages innombrables:

En médecine humaine, elle permet de faire au lit du malade, le diagnostic de l'affection. Elle ne nécessite pas la ponction veineuse et nombre de malades qui hésitent devant la prise de sang se prêteraient volontiers à une simple piquûre au bout du doigt. Chez les enfants, sa facilité d'exécution est encore plus appréciable, la prise de sang rencontrant encore plus de difficultés que chez les adultes.

Le médecin de campagne, isolé, loin de tout laboratoire, tirera de cette méthode des renseignements utiles et rapides pour la conduite de son traitement. Actuellement, où

les relations sont plus difficiles et plus longues à établir entre la ville et la campagne, son diagnostic peut être confirmé sur place.

Enfin, dans certains cas, on hésite parfois à demander la dépense d'un examen complémentaire: or, ce procédé joint à ses qualités de rapidité celle d'être économique.

En médecine vétérinaire, la réaction rapide est depuis longtemps appliquée au diagnostic de la pullorose. Il importe qu'elle prenne place dans la pratique courante du diagnostic de la Brucellose.

Dans l'espèce bovine, en particulier, on sait quelle est la persistance des agglutinines dans le sang des animaux infectés par *Brucella abortus* ou *Brucella melitensis*. Le séro-diagnostic est positif au début de l'infection à des taux très élevés qui se maintiennent ultérieurement à des taux conclusifs. Il y a intérêt, dans une étable, à pouvoir discriminer rapidement les animaux infectés de manière à les éliminer ou les séparer d'animaux sains. C'est ce que l'hémo-diagnostic permettra de faire en quelques minutes.

Remarquons que cette pratique est d'usage courant aux Etats-Unis et en Allemagne; à l'heure où la Brucellose prend chez nous un si grand développement, il y a lieu de répandre cette technique dont l'application ne sera pas une panacée, mais permettra de prendre des mesures à bon escient.

Depuis longtemps, le Centre de Recherches sur la Fièvre ondulante a demandé aux pouvoirs publics de réglementer la vente des animaux et plus encore les saillies par les taureaux communaux. C'est par l'achat de bêtes contaminées qu'un éleveur, la plupart du temps, a contaminé le reste de son troupeau. C'est par le taureau qui véhicule le *Brucella Abortus* à chacune de ses montes, que la maladie gagne l'exploitation jusque là indemne.

Il serait de la plus haute importance qu'avant la vente de bétail dans les foires, les marchés, le vétérinaire put distinguer les animaux malades pour éviter des déboires si coûteux aux malencontreux acheteurs: il suffirait de quelques minutes pour les éliminer.

Certes, l'hémo-agglutination rapide — tout autant que l'agglutination lente — laissera passer des animaux infectés dont le séro-diagnostic apparaîtra négatif (soit que l'infection soit discrète, soit qu'elle se trouve à ses débuts). Nulle méthode n'est parfaite: ce n'est pas une raison pour l'éliminer. Il vaut mieux faire quelque chose d'incomplet que de ne rien faire du tout.

De même les taureaux reproducteurs devraient être soumis à une telle réaction qui permettrait au vétérinaire — le Centre de Recherches sur la Fièvre ondulante en a des exemples — de jeter l'interdit sur tel ou tel animal, sans doute de belle allure ou de belle race, mais disséminateur de bacilles de Bang.

Il va sans dire qu'en raison, non des difficultés, mais de la délicatesse de la lecture de certaines réactions, les vétérinaires devront s'instruire de cette méthode dans les laboratoires de bactériologie (Ecole Vétérinaire, Centre de Recherches sur la Fièvre Ondulante, etc...).

Enfin, il y aurait intérêt à répandre cette méthode pour la vérification des laits employés à la fabrication des « fromages frais »; nombre de Brucelloses sont dues dans nos régions à l'ingestion de ces fromages. Or, en quelques secondes, on pourrait repérer le lait infecté et éviter ainsi la dissémination de la mélitococcie.

CONCLUSIONS

L'hémo-diagnostic, agglutination rapide sur lame, est une méthode économique, rapide, simple et exacte.

Elle doit être pratiquée dans tous les cas où l'on soupçonne une mélitococcie humaine ou animale.

Elle n'exclue pas la vérification par le séro-diagnostic de Wright, seul capable de donner un taux exact des agglutines du sang. Elle laisse donc au laboratoire son rôle important et décisif pour faire le diagnostic.

BIBLIOGRAPHIE

- D.-W. BAKER et R.-C. KLUSSENDORF. — Comparative sensitivity of common types of antigens. *Cornell. Veter.*, 1930, xx, pp. 368-370. In *Techn. Bull. Michigan State College*, janvier 1932.
- C.-C. BASS et J.-A. WATKINS. — Quick macroscopic typhoid agglutination test. *Arch. Int. Med.*, 1910, LXIII, p. 250.
- R. BERGE et A. EKREM. — Frischmilch-Schnellagglutinations. Method zur Feststellung von Brucella-Agglutininen. *Deutsche. Tierärztl. Woch.*, 1932, XII, p. 12. In *Bull. Inst. Past.* 1934, XXXII, p. 90.
- L.-Ch. BRUMPT. — Nouvelle méthode d'hémoagglutination permettant au lit du malade le diagnostic rapide des brucelloses. *Bull. et Mém. Soc. Méd. des Hôp. Paris*, 26 avril 1940, LV, pp. 253-255.
- Nouvelles méthodes d'hémoagglutination permettant au lit du malade le diagnostic rapide des affections typho-paratyphiques, des typhus et des brucelloses. *Bull. et Mém. Soc. Méd. des Hôp. Paris*, 24 mai 1940, LV.
- Utilisation de l'hémodiagnostic en pratique médicale. *Bull. Soc. Path. Exot.*, 1940, XXXIII, pp. 390-393.
- L'hémo-diagnostic rapide des affections typho-paratyphiques, du typhus exanthématique, des brucelloses et des dysenteries bacillaires. *Presse Médicale*, 1941, XLIX, 767.
- L.-Ch. BRUMPT et Mlle G. CORDIER. — Hémo et lacto-agglutinations rapides appliquées au diagnostic et à la prophylaxie des brucelloses. *Bull. Acad. Méd.*, 1943, CXXVII, p. 10.
- E. CERVINKA et J. JILEK. — Etude sur le diagnostic de l'infection avec « Brucella Abortus Bang ». *Zverol. Rozpr.*, 1935, p. 49. In *Bull. Inst. Pasteur*, 1935, XXXIII, p. 729.
- S.-R. DAMON. — A comparison of the rapid and slow agglutination methods for the diagnosis of Bang abortion disease in cattle. *Journ. Amer. Vet. Med. Ass.*, 1929, LXXV, pp. 761-764. In *Bull. Inst. Past.*, 1930, XXVIII, p. 1056.

- H. DAVID. — Zur Diagnose des Bangschen Rinderabortus mittels Schnellagglutinationsverfahren. *Wien. Tierärztl. Monatschr.*, 1943, XXI, pp. 193-201.
- Schnellagglutination. *Tierheilkunde u. Tierereucht.* 1936, LV, pp. 596-603.
- K. DIERNHOFER. — Untersuchungen über einige für die Ergebnisse der Bang-Schnellagglutination maßgebende Faktoren. *Zbl. Bak. I Abt. Ref.*, 1935, CXVI, p. 445.
- Erfahrungen mit der Bang. Schnellagglutination in der Praxis. *Munch. Tierärztl. Woch.*, 1936, pp. 361-365.
- C.-R. DONHAM. — Some of the things we should recognize concerning the agglutination Test for Bang's disease. *Journ. Amer. Veter. Med. Assoc.*, 1933, LXXXII, N. S. 35, pp. 327-335.
- C.-R. DONHAM et C.-P. FITCH. — The relation of the Time element to the results obtained by the rapid agglutination test for the diagnosis of Bang's disease. *Journ. Amer. Veter. Med. Ass.*, 1932, LXXX, N. S., 33, pp. 839-847.
- — Agglutination test in the diagnosis of infectious abortion in cattle (Bang's disease). *Journ. of Infect. Dis.*, 1932, LI, pp. 162-190.
- Agglutination tests in the diagnosis of infectious abortion in cattle. *Journ. of Inf. Dis.*, 1933, LIII, pp. 98-124.
- Rapid agglutination test for infectious abortion in cattle. *Journ. of Inf. Dis.*, 1934, LV, pp. 60-71.
- The use of gelatin in rapid test preparation of Bact. Abortus antigen. Variations in the effect of gelatin in Bact. Abortus antigen preparations, on the agglutination titers of bovin serums. *Journ. of Infect. Dis.*, 1935, LVI, p. 203.
- A modified technic for agglutination in Brucella infection. *Journ. of Infect. Dis.*, 1936, XLIX, pp. 287-295.
- C.-P. FITCH et C.-R. DONHAM. — A discussion of some fundamental principles and practices underlying the application of the agglutination tests for Bang's disease. *Journ. Amer. Veter. Med. Ass.*, 1933, LXXXII, N. S. 35, pp. 46-53.
- S.-E. GOULD et I.-F. HUDDLESON. — Diagnostic methods in Undulant Fever (Brucellosis) with results of a survey of 8.124 person. *Journ. Amer. Med. Ass.*, 1937, CIX, pp. 1971-1974.
- R. GRAHAM et F. THORP. — A comparison of the results of the standard macroscopic agglutination test and Huddleson's rapid method in the serologic diagnosis of Brucella infection in cattle. *Journ. Amer. Veter. Med. Ass.*, 1930, LXXXVI, pp. 652-659.
- W.-J.-B. GREEN et E.-M. ROBINSON. — Modification of rapid-agglutination reaction. *South Africa J. Sc.*, 1930, XXVII, p. 487.

- R. GWATKIN. — The rapid macroscopic agglutination test for Bang's disease. *Journ. Amer. Veter. Med. Ass.*, 1931, LXXVIII, N. S. 31, p. 88. In *Bull. Inst. Past.*, 1931, XXIX, p. 646.
- J. HARDENBERG. — Agglutination tests for the diagnosis of Br. Abortus infection. *New Engl. Journ. of Med. Sc.*, 1930, CCII, p. 465.
- F. HUDDLESON et E.-R. CARLSON. — A rapid method of performing the agglutination test in the serum diagnosis of Bang's abortion disease in cattle. *Journ. Amer. Veter. Med. Ass.*, 1926, LXX, N. S., 23, pp. 229-233.
- F. HUDDLESON et E. ABELL. — Rapid macroscopic agglutination for the serum diagnosis of Bang's abortion disease. *Journ. of Infect. dis.*, 1928, XLII, pp. 242-247.
- I.-F. HUDDLESON, J.-P. TORREY, E.-R. CARLSON. — The relation of the agglutination test to the presence of Br. Abortus in the body of the bovin. *Journ. Amer. Veter. Med. Ass.*, 1928, LXXII, N. S. 25, p. 889. In *Bull. Inst. Past.*, 1928, XXVI, p. 908.
- I.-F. HUDDLESON. — The diagnosis of Brucella infection in animals and Man by rapid macroscopic agglutination. *Techn. Bull. Michigan State College*, janvier 1932.
- A slow-drying antigen for rapid agglutination test. *Journ. Amer. Veter. Med.* 1937, xc, pp. 519-520.
- S.-J. LEWIS. — Simple blood smear agglutination tests; preliminary report. *New-Orleans M. et S. J.*, 1930, LXXXIII, pp. 26-29.
- H. F. LIENHARDT et C.-H. KITSELMAN. — Correlation of rapid and long agglutination tests. *Journ. Amer. Veter. Med. Ass.*, 1928, LXXIII, pp. 328-330.
- A. NOBLE. — A rapid method for the macroscopic agglutination test. *Presented before the 27th annual meeting of the Society of American Bacteriologists*, Dec. 1925. In *Journ. of Bact.*, 1927, xiv, p. 287.
- J.-F. NORTON et L.-R. PLESS. — Agglutinins for Br. Abortus in the blood and milk of cows. *Amer. Journ. of Publ. Health.*, 1931, XXI, p. 499.
- C.-C. PALMER et H.-R. BAKER. — Correlation of the rapid and the slow agglutination test's for Bang's abortion disease of cattle. *Journ. Amer. Veter. Med. Ass.*, 1929, LXXV, N. S. 28, pp. 87-90. In *Bull. Inst. Past.*, 1929, XXVII, p. 950.
- F. RAVAGLIA. — Un metodo rapido e pratico per mettere in evidenza l'infezione de Br. Abortus nei bovini. *Nuova Veter.*, 1936, p. 10. In *Bull. Inst. Past.*, 1937, XXXV, p. 727.
- F. SCHONBERG et H. IMIG. — Ueber eine neue « Abortus-Bang » Testpaste und ihre Anwendung für die Milch-Schnelluntersuchung auf « Abortus » Bang-Agglutinine. *Deutsch. Tieräztl. Woch.*, 1937, XLV. In *Bull. Inst. Past.*, 1938, XXXVI, p. 589.

- O. SCHIRADER — Über den Wert der Milchschnellagglutinationsmethoden Zur Feststellung der Abortus-Bang-Infektion, mit besonderer Berücksichtigung von Danertestflüssigkeiten (gefärbtembrucella-Aborius-Test nach Diernhofer und Abortus-Bang-Testpaste nach Schöngbergu nd Imig). *Diss. Staatliches Veter. Hannover*, 1938. In *Zbl. Bakt. II, Abt.*; Bd, 1940, cii, p. 399.
- E. SCHULTZE. — New apparatus for test agglutination on preparation slide. *Ztschr. f. Infektionskr.*, 1936, xlix, pp. 141-145.
- M. SEELEMAN et C.-H. WOLF. — Die Feststellung der Abortus-Bang-Infektion (Bruzellose) des Rindes mit Hilfe serologischer Vorfahren. Mitteilung-Die-Schnell - und-Langsamagglutination mit Blut und Milch. *Zeitschr. Infektionskr. Haustiere*, 1938, liv, p. 23. In *Bull. Inst. Past.*, 1939, xxxvii, p. 1258.
- W.-M. SIMPSON. — Undulant Fever (Brucelliasis). *Annals of Int. Med.*, 1930, iv, pp. 238-259.
- F. SIRK. — Die Verwendbarkeit getrockneter Blut-und-Milchpräparate in der Bang-diagnostik. *Wien. Tierärztl. Monatsch.*, 1937, xxiv, pp. 614-622.
- F. TERRACHINI. — Method of rapid agglutination in Brucellosis. *Gior. di batteriol. e. immunol.*, 1939, xxii, pp. 732-738.
- K.-H. THIESEN. — Vergleichende Untersuchungen über verschiedene Schnellagglutinationsverfahren zur Feststellung der Bruzellose des Rindes. *Thèse vétér. Hanovre*, 1937, In *Bull. Inst. Past.*, 1940, xxxviii, p. 836.
- J.-P. TORREY. — The diagnosis of Brucella Abortus Infection in the udder of the cow. *Amer. Journ. of Publ. Health*, 1929, xix, pp. 1360-1361.
- W. TROITZKY et F. MAYOFIS. — Schnellagglutinationsverfahren und die Widal reaktion. *Zbl. Bakl. I, Abt. Ref.*, 1933, cx, p. 450
- A.-H. DM VEENBAAS. — Dianosticks en bestrijding van de Abortus Bang in Friesland. *Tydsch. v. Dier. Geneesk.*, 1935, lxii. In *Bull. Inst. Past.*, 1936, xxxiv, p. 517.
- H. WELCH et L. MICKLE. — Comparison of Huddleson slide test with for Bang's disease in range cattle. *Journ. Amer. Veter. Med. Assoc.*, 1935. In *Bull. Inst. Past.*, 1935, xxxiii, p. 729.
- H. WECH et L. MICKLE. — Comparison of Huddleson slide test with macroscopic tube test; further studies. *J. Lab. et Clin. Med.*, 1933, xviii, pp. 627-636.
- F. WIDAL et A. SICARD. — —Etude sur le séro-diagnostic et sur la réaction agglutinante chez les typhiques. *Ann. Inst. Past.* 1897, ii, pp. 353-432.
- W. WISNICKY et V.-S. LARSON. — Blood-testing for abortion by the practitioner. *Journ. Amer. Veter. Med. Ass.*, 1931, xxxi, p. 332.

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION.	11
CHAPITRE PREMIER. — <i>Historique.</i>	13
CHAPITRE II. — <i>Technique</i>	25
1. Le matériel.	25
2. L'antigène.	26
3. La réaction	27
CHAPITRE III. — RÉSULTATS	33
CHAPITRE IV. — AVANTAGES DE L'AGGLUTINATION RAPIDE	37
CONCLUSION.	40
BIBLIOGRAPHIE.	41

SERMENT

En présence des Maîtres de cette Ecole, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Etre suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent, et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admise dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime. Respectueuse et reconnaissante envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses! Que je sois couverte d'opprobre et méprisée de mes confrères si j'y manque.

En ma qualité de Censeur de tour
j'ai lu la Thèse ayant pour titre :

*L'agglutination rapide. Métho-
de de diagnostic des brucelloses*

par Mlle Geneviève GUY.

Je pense que la Faculté peut en
permettre l'impression :

Montpellier, le 13 juin 1943.

Le Professeur,
LISBONNE.

Vu:

Montpellier, le 15 juin 1943.

Le Doyen,

GIRAUD.

Vu et permis d'imprimer:

Montpellier, le 15 juin 1943.

Le Recteur,
SARRAILH.

La Faculté de Médecine de Montpellier déclare que les opinions émises
dans les dissertations qui lui sont présentées, doivent être considérées
comme propres à leur auteur et qu'elle n'entend leur donner ni approba-
tion, ni improbation.

